

Onderzoek naar vitamine K en de bloed stollingsfactoren

Citation for published version (APA):

Hemker, H. C. (1973). Onderzoek naar vitamine K en de bloed stollingsfactoren: Wisselwerking tussen basiswetenschap en klinische praktijk is kenmerk medisch-biologisch onderzoek. *Acta et agenda*, 1973, 330-331.

Document status and date:

Published: 11/01/1973

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Onderzoek naar vitamine K en de bloedstollingsfactoren

Wisselwerking tussen basiswetenschap en klinische praktijk is kenmerk medisch-biologisch onderzoek

Sinds onheuglijke tijden hebben ongeval en ziekte de mens op pijnlijke wijze bewust gemaakt van zijn eigen lichaam. De neiging deze rampen door rationeel ingrijpen ten goede te keren zal wel zo oud zijn als de homo faber zelf. Rationeel ingrijpen vereist uiteraard kennis van het proces, dat men wil beïnvloeden. Aan de basis van alle medisch-biologische research ligt dan ook een welbegrepen eigenbelang.

Avonturiersgeest

Het essentiële kenmerk van het medisch-biologische onderzoek is de constante wisselwerking tussen basiswetenschap en klinische praktijk. In de eerste plaats is het zonder meer duidelijk, dat een beter begrip van de normale levensfuncties het mogelijk maakt bij ziekte adequater in te grijpen; daarom zijn de basiswetenschappen van belang voor de kliniek. Een tweede aspect is minder voor de hand liggend, maar minstens even belangrijk: bestudering van pathologische toestanden geeft ook informatie over de normale functies. De ziekte fungeert vaak als een „experiment of nature” en biedt daarmee de gelegenheid waarnemingen te doen, die anders niet mogelijk zijn.

Hoe duidelijk dit ook allemaal moge lijken, de natuurwetenschappelijke benadering van emotioneel beladen zaken als ziekte en dood roept nogal wat gevoelens op, die de sfeer rond het medisch-biologisch onderzoek vertroebelen.

De leek, ook de meest intelligente, stelt zich niet vaak neutraal op, maar toont ofwel een emotionele afkeer of een onberedeneerde bewondering. Beide zullen wel dezelfde grondoorzaak hebben: projectie van de eigen onmachts- (respectievelijk almachts-) gevoelens tegenover leven en dood in de medisch-biologische onderzoekers.

De groep van niet-leken wordt gevormd door de medici enerzijds en aan de andere kant de biologen (in de ruimste zin van het woord, dat wil zeggen iedereen, die de levende natuur bestudeert met natuur-wetenschappelijke methoden, dus ook biochemici, biofysici enzovoorts). Deze groepen zijn ook nog niet direct een grote voorstander van het medisch-biologische onderzoek. De pur sang medicus erkent weliswaar, dat er een hoeveelheid natuurwetenschappelijke kennis nodig is om zijn patiënten adequaat te behandelen, maar ziet zijn hoofdtaak in dat behandelen. Hij stelt zich tevreden met het toepassen van wat anderen voor hem hebben uitgevonden. Hij voelt zich daardoor vaak nauwelijks tot het medisch-biologische onderzoek aangetrokken. De natuurwetenschappelijk ingestelde bioloog ziet het medisch-biologische onderzoek — dat overigens aan de wieg gestaan heeft van vrijwel alle biologische vakken — vaak als een „besmet” gebied, waar de zuivere wetenschap moeilijk of niet aan bod komt.

Het vereist wat avonturiersgeest om te kunnen blijven werken op het gebied van de medisch-biologische research, aan de ene kant lokt de rust van de ongeëngende natuurwetenschap, aan de andere kant de bevrediging van de prak-

tizerende geneesheer. Verder vereist het samenwerking: de dialoog tussen basiswetenschap en kliniek moet op gang gehouden worden om het gevaar van een eenzijdige benadering te voorkomen.

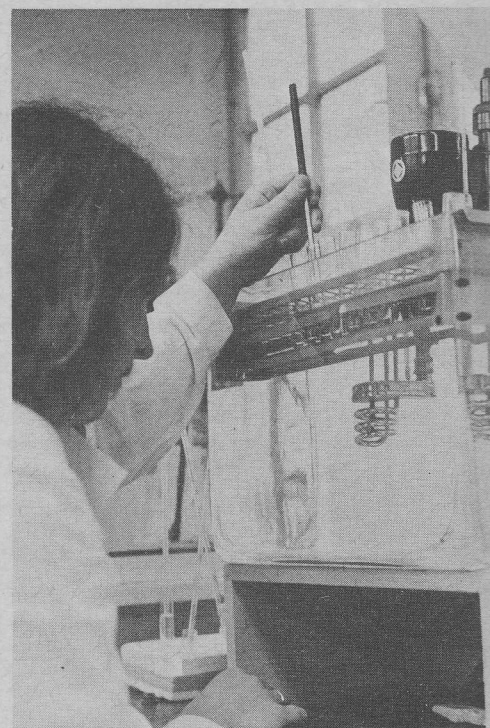
De Leidse medische faculteit kent fraaie voorbeelden van grensverleggend basiswetenschappelijk onderzoek in nauwe samenwerking met de kliniek.

De kinderarts Gorter en zijn medewerkers lanceerden in 1925 als eersten het idee, dat biomembranen bestaan uit een lipide dubbellaag, een concept dat voor biochemie en biofysica van fundamentele betekenis bleek. Een ander voorbeeld is het onderzoek op celbiologisch en klinisch terrein naar de hormonale beïnvloeding van de botstofwisseling en eiwitstofwisseling door de groepen van Gaillard en Querido. Als derde zou men het onderzoek over de transplantatie en immunologie van Van Rood en Van Bekkum met hun medewerkers kunnen noemen. Dit zijn slechts enkele in het oog springende voorbeelden. Een complete lijst zou — behalve voor de betrokkenen — erg oninteressant worden. Liever dan te proberen een inventarisatie te geven, wil ik daarom van deze gelegenheid gebruikmaken om iets te vertellen over een kleiner en minder bekend onderzoek, namelijk ons eigen onderzoek over vitamine K en de bloedstollingsfactoren.

Bestrijding trombose

De aanleiding tot dit onderzoek was een probleem van zuiver klinische aard, namelijk de bestrijding van trombose in de slagaderen. Om duidelijk te maken, waar het eigenlijk om gaat, moeten wij eerst wat achtergrondinformatie geven.

Normaal stromend bloed blijft altijd vloeibaar. Als er echter bloed uit een wond stroomt, zal dit na enige tijd stollen. Dit stollen is een ingewikkeld proces, waarbij bloedcellen (de thrombocyten) en plasmaeiwitten (een tiental verschillende „stollingsfactoren”) een rol spelen. Als bloed onvoldoende stroomt, kan in de aderen ook een soort stolsel optreden, de zogenaamde veneuze thrombus. Dit is een ernstig verschijnsel. Eertijds was de veneuze trombose een gevreesde en vaak dodelijke complicatie van operaties en bevallingen. Ook in de slagaderen kan trombosevorming optreden, vooral als zij door atherosclerose („aderverkalking”) zijn aange-tast. Dergelijke thrombi zijn onder andere verantwoordelijk voor (c.q. een ernstige complicerende factor) bij het hartinfarct. Alleen het hartinfarct al vormt een derde deel van de doodsoorzaken bij de volwassen man. Tromboseonderzoek is dus



Het bepalen van de stollingstijd van plasmasels is nog altijd de basis voor de bepaling van stollingsfactoren.

een volksgezondheidsbelang van de eerste orde. Arteriële zowel als veneuze trombose ontstaat onder invloed van trombine en trombine is verantwoordelijk voor de normale bloedstolling. Trombose is dus een pathologische uiting van een nuttig beschermend mechanisme. Net zoals voor de normale bloedstolling zijn er thrombocyten en stollingsfactoren voor nodig. Nu hebben vier van die stollingsfactoren (waaronder het protrombine, waaruit het trombine ontstaat) een eigenaardige eigenschap. Willen zij op normale wijze door het lichaam worden aangemaakt, dan is daarvoor vitamine K nodig. Bij een vitamine K-deficiëntie of door toediening van stoffen, die vitamine K „de weg zitten” (de zogenaamde coumarines met anti-vitamine K-werking) worden zij door de lever niet of in verminderde mate aangemaakt, daardoor zal het bloed minder makkelijk stollen. Hierdoor ontstaat ook minder gemakkelijk een thrombus. Door het toedienen van coumarines kan men op deze wijze de kans op trombose sterk verkleinen. Sinds het invoeren van deze therapie is het gevaar van de veneuze trombose veel en veel kleiner geworden.

Dosering

Het bleek echter, dat het therapeutisch effect van de arteriële trombose veel minder duidelijk was dan dat op de veneuze trombose. En verder bleek dat dit een kwestie van dosering was. Het protrombinegehalte moest worden gebracht op ongeveer twintig procent van het normale gehalte, wil er een preventief effect zijn op de veneuze trombose. Om de arteriële trombose te voorkomen moet men dit gehalte nog eens halveren. Onder de vijf procent krijgt een patiënt echter (net als bij de bloederziekte) een bloedingsneiging, die niet zonder risico's is. Het coumarine moet dus zeer precies gedoseerd worden, maar dat bleek heel lastig te zijn. Niet alleen bestaan er grote verschillen tussen de gevoeligheid v

umarine van verschillende patiënten, maar ook gevoeligheid bij één patiënt kan in de loop van tijd sterk veranderen. Daarom is het noodzakelijk, dat het effect van de therapie, dat wil zeggen verlaging van het protrombinegehalte in het bloed geregeld gecontroleerd wordt. Hier nu bleken grote praktische moeilijkheden te zitten: er bestond geen goede methode om dit gehalte geregeld te bepalen. De methoden, waarover wij beschikten, gaven onderling verschillende en nogal wisselende resultaten. Voor het bestrijden van de nieuwe trombose was dat niet zo erg, omdat maar aan de diepte en nauwkeurigheid van de antistolling niet van die extreme eisen werden gesteld en omdat het meestal gaat om relatief korte periodes van behandeling bij patiënten, die toch nauwkeurig worden geobserveerd. Een ambulante patiënt jarenlang tussen acht en twaalf procent van zijn normale protrombinegehalte te houden vereist echter een zeer betrouwbare en goed interpreteerbare bepalingmethode.

E oplossing wordt gevonden door terug te grijpen op een methode uit de biochemie. Het bleek, dat de enzymkinetika (de studie van het verband tussen reactiesnelheden en concentraties in biochemische systemen) met vrucht kon worden toegepast op de bloedstolling. Wel was het hiervoor noodzakelijk, dat de klassieke enzymkinetica werd uitgebreid. Dat was werk van analytisch-mathematische aard, dat met behulp van deskundige mathematische hulp tot een goed einde gebracht kon worden.

Omdat toepassen van kinetische methoden vooronderstelt, dat het reactiemechanisme bekend is, was het noodzakelijk tegelijkertijd het reactiemechanisme van de bloedstolling te bestuderen. Ook deze poging had succes. Na een drietal jaren biochemisch werk waren wij in staat als eersten het sluitend reactiemechanisme voor het bloedstollingsproces te geven en verder hadden wij de formules in handen, die voor dit systeem aangeven, hoe de reactiesnelheid afhangt van de concentraties van ieder van de (acht!) reactanten. Dit maakte het mogelijk de routinetests, die voor het instellen van de therapie gebruikt werden, nauwkeurig te evalueren en te standaardiseren. Vooral dit laatste was belangrijk, omdat hierdoor internationale vergelijkbaarheid van de klinische resultaten werd bereikt en ook de antistolling van ambulante patiënten gewaarborgd kon worden.

P.I.V.K.A.

Een van de biochemische oogpunten gezien waren de resultaten interessant. Het bleek, dat in de bloedstolling een heel bijzonder soort enzym optreedt. Het ontstaat, doordat aan een lipide oppervlak naast elkaar twee verschillende (en, voor het stollingsproces begint, onafhankelijke) eiwitten geadsorbeerd worden. De taak van een dergelijk enzym is een derde stollingsfactor op een dusdanige wijze chemisch te splitsen, dat hijzelf in de stolling actief kan zijn. Dus bijvoorbeeld om protrombine om te zetten in trombine. Het bleek, dat een van de twee geadsorbeerde eiwitten het enzymatische werk doet (het zogenaamde „active centrum” bezit), terwijl het andere (het hulp-eiwit) de specificiteit bepaalt (als het ware helpt het protrombine vast te houden) (zie tekening).

Het bleek, dat wij hiermee een model in handen hadden voor andere biochemische systemen. Zeer

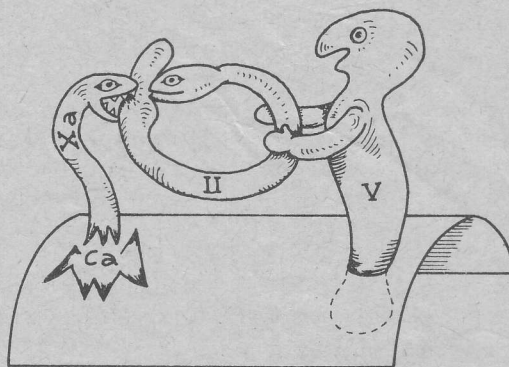
veel interessante biochemische reacties spelen zich namelijk af aan de grens van een lipide en een waterfase (bijvoorbeeld aan membranen). Het samenwerken van een enzym met een hulpeiwit is bij deze reacties in een aantal gevallen heel aannemelijk.

De nauwkeurige waarnemingen, die wij nu bij de patiënten, die dicoumarol kregen, konden verrichten, bevestigden een vermoeden, dat wij al eerder hadden: bij dergelijke patiënten is er veel meer aan de hand dan alleen een verlaging van het protrombinegehalte (en dat van een paar andere stollingsfactoren). Het bleek, dat parallel met het verdwijnen van het protrombine een ander eiwit in de circulatie kwam. Dit eiwit leek geweldig veel op het normale protrombine, maar had een remmende werking op de stolling in plaats van zelf een stollingsbevorderende factor te zijn. Wij doopten dit eiwit P.I.V.K.A., dat wil zeggen Protein Induced by Vitamin K Absence.

Deze ontdekking hield een directe aanwijzing in voor het werkingsmechanisme van vitamine K. Het zou te ver voeren uit te leggen, waarom precies, maar het waargenomen gedrag is het best te verklaren, als men aanneemt, dat protrombine (maar ook ieder van de drie andere vitamine K-afhankelijke stollingsfactoren) in twee stappen in de levercel worden gesynthetiseerd. Eerst wordt, zonder dat vitamine K er iets toe doet, een eiwit gemaakt (de voorloper) en daarna wordt binnen de levercel onder invloed van vitamine K nog iets aan die voorloper veranderd en deze verandering maakt er protrombine van. Als die laatste stap om een of andere reden geremd is, bijvoorbeeld door de aanwezigheid van coumarines of door de afwezigheid van vitamine K, komt niet het protrombine in het bloed, maar de voorloper. Wij hadden alle reden aan te nemen, dat nu juist die voorloper het waargenomen P.I.V.K.A. is.

Bestaan aangetoond

Het postuleren van een dergelijk eiwit is één ding, het eiwitchemisch aantonen, dat het bestaat, is iets heel anders. Als het werkelijk bestaat, moet het ook uit plasma gezuiverd kunnen worden. Aantonen en zuiveren van de voorloper waren dus onze volgende opgaven. Ook hiermee werd een gecombineerd medisch en biochemisch belang gediend. Als men de geïsoleerde voorloper in handen heeft, kan men proberen hem onder invloed van vitamine K te laten omzetten in normaal protrombine. Daarmee kan men nagaan, wat vitamine K precies doet in de cel, iets dat tot nu



Een van de complexe enzymen, die in de bloedstolling een rol spelen.

U komt toch wel zaterdag 10 februari 1973 naar Leiden. U bent vrij in de keuze van de te volgen colleges, dus ook buiten uw eigen faculteit.

toe niet bekend is. Maar ook kan men nagaan, hoe de voorloper de thrombusvorming beïnvloedt, en zodoende de antistollingstherapie verbeteren. Verder bleek het aantonen van deze stoffen een diagnostisch hulpmiddel bij leverziekten.

Inmiddels had ons onderzoek in het buitenland weerklink gevonden. In Frankrijk, de Verenigde Staten en Zweden bevestigde men onze resultaten. De Zweden waren ons voor met het isoleren van de voorloper van protrombine.

Zoals reeds vermeld, zijn er vier verschillende stollingsfactoren, die van vitamine K afhankelijk zijn, namelijk de nummers II, VII, IX en X (II is het protrombine). Men kan dus theoretisch vier P.I.V.K.A.'s verwachten. Inderdaad waren wij verleden jaar in staat ook de voorlopers van de factoren IX en X immunochemisch aan te tonen en (zij het in geringe hoeveelheid) geïsoleerd in handen te krijgen.

Zo ziet men, hoe door gedurig contact met de kliniek een onderdeel van de biochemie zich kan ontwikkelen en hoe de kliniek daar weer van kan profiteren. Na verloop van tijd zal het stollingsonderzoek wel een zelfstandig natuurwetenschappelijk-biochemisch leven gaan leiden, zoals dat ook het geval is geweest met bijvoorbeeld het hemoglobineonderzoek of de immunochemie. Tot op heden is echter de inbreng van de zijde van de kliniek onontbeerlijk geweest.

Samenwerking

Het onderzoek, zoals dat hier geschets is, is natuurlijk alleen mogelijk door samenwerking. De samenwerking met klinici en biochemici heb ik al vermeld, maar ook andere vormen van samenwerking zijn nodig. Financiële steun bijvoorbeeld werd, behalve van faculteit en ziekenhuis, verkregen van F.U.N.G.O., S.O.N., het ministerie van sociale zaken en volksgezondheid en de Nederlandse Hartstichting. Nog veel belangrijker is de samenwerking binnen het laboratorium. Omdat het onderwerp reeds vrij beperkt is, gaat het niet aan het nogmaals te beperken tot één vakgebied. Als men eenmaal besloten heeft een groep van ziekteverschijnselen te bestuderen, moet men zich niet nogmaals beperken tot bijvoorbeeld een strikt biochemische benaderingswijze. Een multidisciplinaire aanpak heeft veel meer kans van slagen. Behalve artsen en chemici zitten er in onze groep bijvoorbeeld een mathematicus en een fysicus. Wij moeten maar hopen, dat in de toekomst de research niet te streng naar discipline wordt georganiseerd en de speelruimte voor een dergelijke aanpak toelaat.